

## Análisis de los factores pronósticos de progresión tumoral en el adenocarcinoma renal

Budía Alba A, Gómez Pérez L, Bango V, Ruiz-Cerdá JI, Sempere A\*, Queipo JA, Jiménez Cruz JF.

*Servicio de Urología y \*Hematología. Hospital Universitario la Fe de Valencia.*

Actas Urol Esp 2007;31(8):831-844

### RESUMEN

#### ANÁLISIS DE LOS FACTORES PRONÓSTICOS DE PROGRESIÓN TUMORAL EN EL ADENOCARCINOMA RENAL

**Introducción:** Aproximadamente el 40% de los pacientes con adenocarcinoma renal (AR) fallecen por progresión tumoral a pesar del tratamiento. El 30-40% de los pacientes que progresan, presentan una enfermedad quirúrgicamente resecable en el momento del diagnóstico.

**Objetivo:** El objetivo de este estudio ha sido evaluar que factores muestran un valor pronóstico independiente de supervivencia libre de progresión en el AR.

**Material y métodos:** Estudio retrospectivo de 252 tumores renales intervenidos quirúrgicamente entre 1969-2001. La mediana de seguimiento fue de 36,47 meses (12-246). Las variables evaluadas fueron la edad, el TNM (TNM 2002), grado nuclear de Furrhman, tipo histológico, tamaño (diámetro mayor de la pieza quirúrgica) y ploidia del ADN (para un mínimo de 3 muestras en fresco de cada tumor). El contenido de ADN se obtuvo mediante citometría de flujo. La progresión biológica fue definida como recurrencia local, regional y/o presencia de metástasis a distancia. Se utilizaron métodos estadísticos comparativos tanto univariantes (Chi-cuadrado, método de Kaplan-Meyer con el log-rank test) como multivariantes (regresión múltiple de riesgos proporcionales de Cox).

**Resultados:** De los 252 pacientes, 43 se desestimaron para el análisis por un estudio de la ploidia del ADN no válido (coeficiente de variación superior a 8). De los 224 válidos, progresaron 89 (39,74%). La mediana del tiempo libre de progresión fue de 9,55 meses (0-133), de tal forma que el 70,9% de los que recidivaron lo hicieron en los dos primeros años del seguimiento. De los pacientes que progresaron, el 89,5% lo hicieron de forma locoregional, el 9,4% lo hicieron a distancia y 2 pacientes (1,2%) en el riñón contralateral. El 83,1% de los que recidivaron fallecieron por la enfermedad. Al analizar la asociación de las variables con la progresión tumoral, los tumores de alto grado, no organoconfinados y aneuploides presentaban una probabilidad significativamente mayor de progresión. En el análisis univariante de supervivencia el estadio III-IV, el grado nuclear III-IV, los tipos histológicos indiferenciado y convencional, así como los tumores aneuploides mostraron peor probabilidad de supervivencia. El análisis multivariante mediante regresión de Cox, utilizando como variables explicativas los factores pronósticos evaluados en el univariante, seleccionó al TNM, grado nuclear y ploidia del ADN como factores pronósticos independientes de supervivencia libre de progresión.

**Conclusiones:** Los resultados de este estudio indican que el TNM 2002, el grado nuclear y la ploidia del ADN tienen un valor pronóstico independiente de supervivencia libre de progresión. Ni el tipo histológico, ni el tamaño tumoral aportaron información adicional en la predicción pronóstica.

**Palabras clave:** Tumor renal. Progresión. Factores pronósticos.

### ABSTRACT

#### PROGNOSTIC FACTORS FOR DISEASE PROGRESSION IN PATIENTS WITH RENAL CELL CARCINOMA.

**Introduction:** More than 40% of patients with renal cell carcinoma present with disease progression after surgery. The objective of the current study was to identify a clinically useful set of prognostic factors that would correlate significantly with the capacity of progression.

**Material and methods:** The authors studied 252 patients with renal cell carcinoma who underwent radical nephrectomy. Follow-up ranged from 12-246 months (median 36 months). Several morphologic parameters of the tumors were considered. DNA content was analyzed by flow cytometry and tumor size was determined from the surgical specimen. A Cox proportional hazards regression model was used to identify significant independent prognostic factors for disease progression.

**Results:** A total of 224 out of 252 were available for suitable histograms. Of the 224 patients, 95 (42,4%) were aneuploid tumors, 106 (47,2%) were organ-confined renal cell carcinoma and 87 (39,74%) presented disease progression. At 5 and 10 years of follow-up, disease free survival was found to be 66,31% and 62,23%, respectively. Univariate analysis revealed that DNA ploidy, Furrhman grade and stage (TNM) had a statistically significant predictive value for disease progression. Survival univariate analysis found a worse probability of survival for aneuploid tumors, grade III-IV tumors, non organ-confined tumors and conventional and undifferentiated tumors. Using multivariate survival analyses, Furrhman grade, stage (TNM) and DNA ploidy were the only independent prognostic factors. So, the probability of death for aneuploid tumor was 1,7 times higher than for diploid tumors.

**Conclusions:** Stage, DNA content and Furrhman grade were the only significant independent predictors of disease progression. Tumoral size and histological type did not provide more additional information.

**Keywords:** Renal tumor. Progression. Prognostic factors.

Los tumores malignos del riñón (pelvis renal y parénquima) suponen el 2,6% de los tumores malignos de nuevo diagnóstico y son el tercer tumor más frecuente del tracto urinario. El 80% de los tumores renales son del parénquima y el 85% de éstos son adenocarcinomas (AR). La incidencia estimada del AR en el año 2006 en Estados Unidos fue de 38890 nuevos casos, falleciendo aproximadamente 12849 durante ese año por la enfermedad<sup>1</sup>. Este tipo de tumor presenta la ratio de mortalidad anual/incidencia más alta de todos los tumores urológicos. La máxima incidencia se produce en la séptima década de la vida con una media de edad al diagnóstico de 66 años y una mediana de 70, afectando con mayor frecuencia a los varones<sup>2</sup>. La incidencia en autopsias está en torno al 2% aproximadamente<sup>3</sup>.

Históricamente el AR ha sido considerado como una entidad única que expresa diferentes apariencias morfológicas. Hoy en día, el AR constituye una familia de cánceres resultantes de diferentes anomalías genéticas con una única morfología fenotípica y un mismo origen, la célula epitelial del túbulo renal. Se caracteriza por ser un tumor con un comportamiento biológico heterogéneo e imprevisible. Así, tumores con estadios y grados de diferenciación similares presentan evoluciones diferentes, y aproximadamente el 20-30% de los tumores renales organoconfinados clasificados como pT<sub>1</sub>-pT<sub>2</sub> N<sub>0</sub> M<sub>0</sub> (según la clasificación del TNM 2002) tienen progresión tumoral tras la cirugía<sup>4</sup>. Se han propuesto diferentes parámetros morfológicos para explicar esta variabilidad en el comportamiento biológico, como el grado nuclear, patrón histológico, tipo celular y tamaño tumoral, pero su valor pronóstico es controvertido. También se han evaluado otros parámetros, como la ploidia del ADN, marcadores moleculares y marcadores de apoptosis entre otros, con resultados controvertidos. Recientemente la utilización de nomogramas, modelos matemáticos y algoritmos de puntuación han permitido una mejor predicción pronóstica, pero no han conseguido sustituir hasta el momento a los sistemas de estadificación actuales.

La utilización de todos estos factores nos proporcionan una aproximación al pronóstico sin permitirnos individualizar, ni obtener una mayor

rentabilidad pronóstica en tumores incidentales, que actualmente suponen el 48-60% de las series más recientes. De ahí la necesidad de buscar nuevos factores que nos permitan una mayor exactitud pronóstica en estos tumores.

Así en esta línea de trabajo, el objetivo de este estudio ha sido evaluar que factores muestran un valor pronóstico independiente de supervivencia libre de progresión en el AR en nuestra serie de pacientes.

## MATERIAL Y METODOS

En este trabajo hemos analizado una muestra de 252 pacientes diagnosticados en el Hospital Universitario La Fe de Valencia de carcinoma renal, entre los años 1969 y 2001, e intervenidos quirúrgicamente.

Todos los tumores fueron sometidos a un análisis del contenido de ADN nuclear mediante citometría de flujo. De los 252 pacientes incluidos, 28 (11,1%) fueron desestimados para el análisis de resultados, por un obtener en el estudio de la ploidia de ADN un histograma inadecuado para su análisis. Los criterios de exclusión fueron un coeficiente de variación superior a 8 o la presencia de agregados en más de un 25% en cada de las muestras analizadas. Por tanto, la muestra estuvo constituida por una serie homogénea, compacta y perfectamente definida de 224 pacientes.

De los 224 pacientes incluidos, 143 (63,8%) fueron hombres y 81 (36,2%) fueron mujeres, con una relación varón/mujer 1,7:1. La mediana de edad fue de 60 años con un rango de 57 (26-83). La mediana de seguimiento fue de 36,47 meses (12-246). Todos los pacientes fueron sometidos a nefrectomía radical y linfadenectomía regional con o sin tratamiento adyuvante. Las características clínico tumorales de los pacientes se recogen en la Tabla 1.

El estudio preoperatorio incluyó ecografía, radiografía de tórax y tomografía axial computarizada abdomino-pélvica y en ocasiones resonancia magnética nuclear abdomino-pélvica. Tras la cirugía los pacientes fueron seguidos de acuerdo a los protocolos oncológicos del Servicio de Urología del Hospital Universitario La Fe de Valencia, con controles cuatrimestrales durante el 1º año, semestrales a partir del 2º año, y anua-

**Tabla 1.** Análisis descriptivo de la muestra.

VARIABLES	N (%)
<b>Nº CASOS EVALUABLES</b>	224 PACIENTES
<b>SEXO</b>	
Varón	143 (63,8)
Hembra	81 (36,2)
<b>EDAD</b> (mediana y rango)	
Varones	59 (35-82) años
Hembras	62 (26-83) años
<b>ESTADIO</b>	
Estadio I	55 (24,5)
Estadio II	51 (22,7)
Estadio III	80 (35,7)
Estadio IV	38 (17,1)
<b>TIPO HISTOLÓGICO</b>	
Carcinoma convencional	148 (66)
Carcinoma papilar	49 (21,9)
Carcinoma cromóforo	20 (9)
Carcinoma indiferenciado	7 (3,1)
<b>TAMAÑO</b> (según cuartiles)	
0,5-5,5 cm.	58 (26)
5,6-7 cm	55 (24,2)
7- 10 cm.	61 (26,9)
>7 cm.	51 (22,9)
<b>GRADO</b>	
Grado I	70 (31,5)
Grado II	83 (37)
Grado III	46 (20,5)
Grado IV	25 (11)
<b>PLOIDIA DEL ADN</b>	
Tumores diploides	129 (57,6)
Tumores aneuploides	95 (42,4)

les a partir del 5º año. En estos controles incluimos analítica general con determinación de ferritina, ecografía hepatorrenal y tomografía axial computerizada toraco-abdomino-pélvica. La progresión biológica fue definida como recurrencia local, regional y/o presencia de metástasis a distancia.

#### Estudio anátomo-patológico

Fue realizado por el Servicio de Anatomía Patológica del Hospital Universitario La Fe de Valencia, tras la extracción de la pieza. El estudio de extensión anatómica tumoral se reclasificó siguiendo los criterios de la clasificación de consenso TNM 2002 de la International Union

Against Cancer. El grado nuclear fue evaluado con el sistema de gradación descrito por Fuhrman<sup>5</sup>. El tamaño tumoral fue obtenido de la pieza tumoral, considerando su diámetro mayor. Todos los tumores benignos fueron excluidos de este estudio.

#### Análisis del ADN nuclear mediante citometría de flujo

El análisis del contenido de ADN mediante citometría de flujo se basa en la capacidad de algunos fluorocromos, como el yoduro de propidio (IP), para unirse específicamente a dicho ácido. El IP se une intercalándose a los ácidos nucleicos de doble cadena, emitiendo las células teñidas una fluorescencia proporcional a la cantidad de ADN. La citometría de flujo mide la fluorescencia de cada célula marcada al pasar a través del haz del láser, proporcionando información cuantitativa del ADN.

El estudio de ADN nuclear fue realizado en el laboratorio de citometría de flujo del Servicio de Hematología del Hospital Universitario La Fe de Valencia, tras la obtención en fresco de un máximo de cuatro muestras tumorales de forma randomizada y evitando zonas hemorrágicas, fibróticas o necróticas. Tras abrir la pieza por su convexidad respetando el hilio, las muestras fueron procesadas de forma inmediata tras su llegada al laboratorio. En este estudio, el análisis de los 115 pacientes más recientes (51,34%), se realizó sobre células obtenidas de muestras en fresco. Las muestras así obtenidas fueron analizadas en fresco, disgregando el material con bisturí y obteniendo las células mediante aspiración con aguja. Para realizar el estudio citométrico se utilizó un reactivo comercial *Coulter DNA-Prep Reagents Kit*, (Coulter Corporation, Miami, Florida, USA), que incluye dos soluciones, el reactivo de lisis y permeabilización (DNA-Prep LPR) y el reactivo de IP y de ribonucleasa (DNA-Prep Stain). El método consistió en los siguientes pasos<sup>6-9</sup>: a 100mL de la muestra se le añadió 200 mL de la solución DNA-Prep LPR, agitándose enérgicamente. Después se añadieron 2 mL del reactivo DNA-Prep Stain y se incubó durante 20 minutos a temperatura ambiente en la oscuridad. Finalmente se procedió a la lectura por el citómetro de flujo. En los 109 pacientes (48,66%)

más antiguos de la serie el análisis de ADN se realizó de muestras tumorales desparafinadas, seleccionando los bloques de parafina que contenían una proporción de tejido tumoral suficiente e incluían las áreas de mayor grado de indiferenciación nuclear. Se realizaron 4 secciones finas de 5 y de 150  $\mu\text{m}$ . mediante microtomo. Las secciones de 5  $\mu\text{m}$  se utilizaron para teñirlas con hematoxilina y eosina y analizar el tipo histológico, el grado tumoral y el patrón de crecimiento. Las secciones de 150  $\mu\text{m}$  fueron usadas para analizar el contenido de ADN. Las muestras se incubaron con una solución de pepsina al 0,5% con 0,9% de cloruro sódico y ajustadas a un pH de 1,5 con ácido clorhídrico durante 60 minutos a 37° grados centígrados. Tras la centrifugación se retiró la pepsina y se resuspendió la muestra para contabilizarla utilizando un citómetro de flujo. La preparación de la suspensión nuclear de las muestras parafinadas tumorales, se realizó mediante la técnica de Hedley<sup>10</sup> con ligeras modificaciones para disminuir la destrucción nuclear. La tinción posterior con iP y el análisis del ADN se realizó de forma similar a la descrita anteriormente para las muestras frescas. Como muestra control se utilizó parénquima renal sano, sin enfermedad neoplásica.

El citómetro utilizado ha sido el *Cytoron Absolute* (Ortho Diagnostic Systems Inc.), efectuándose el análisis con el programa informático ModFit LT (Verity Software House, Inc.). El programa utilizado para la adquisición de las muestras fue el InmunoCount II versión 2.2 (Ortho Diagnostic Systems Inc.)

Las muestras tumorales fueron consideradas diploides cuando se detectaba un sólo pico  $G_0/G_1$  y su índice de ADN estaba entre 0,9 y 1,1 (cociente entre el canal del pico  $G_0/G_1$  de la muestra y el canal del pico  $G_0/G_1$  de las células control diploides normales). Se consideraron como no diploides cuando presentaban dos picos  $G_1/G_0$  claramente separados. Dentro de éstas se catalogaron como hipoploides si el índice de ADN era menor de 0,9, hiperploide si era entre 1,2 y 1,9, tetraploide si el segundo pico contenía más del 15% de las células del total y su índice de ADN era entre 1,9 y 2,1 e hipertetraploides cuando el índice de ADN era superior a 2,1. El coeficiente de variación para cada pico diploide fue

medido y se excluyeron del estudio aquellas muestras con valores superiores al 8%.

Al analizar varias muestras del mismo tumor nos permitió evaluar la heterogeneidad del tumor, considerándolo diploide cuando todas las muestras lo eran y aneuploide cuando al menos una de ellas no lo era. El tumor fue considerado heterogéneo cuando existían muestras diploides y aneuploides en el mismo tumor, o cuando siendo aneuploide existían 2 o más picos aneuploides en el mismo tumor, y homogéneo cuando todas las muestras eran diploides o aneuploides.

### Análisis estadístico

Todas las pruebas estadísticas se realizaron con una significación del 0,05 y las estimaciones con un intervalo de confianza del 95%. Se utilizaron métodos estadísticos comparativos tanto univariantes como multivariantes para analizar las diferencias entre los distintos factores clínicos y tumorales.

#### Análisis univariante

Para estudiar la asociación entre variables cualitativas se han realizado los siguientes tests: Prueba de Chi-cuadrado/Prueba exacta de Fisher. Para la prueba de Chi-Cuadrado se crearon tablas de contingencia 2 x 2 y se compararon las proporciones de la característica a estudio por grupos. En aquellos casos en que una de las frecuencias esperadas en alguna de las casillas de la tabla de contingencia tenía un valor inferior a 5, se utilizó la prueba exacta de Fisher. Las tablas de contingencia donde se analizaron variables ordinales con más de dos categorías se utilizaron los tests Gamma, d de Somers, tau-b de Kendall y tau-c de Kendall. Para estratificar las variables, se establecieron puntos de corte elegidos siguiendo criterios de tamaño muestral, normalidad de la característica o los que mejor perfilaban las diferentes categorías de la variable desde un punto de vista clínico. Las curvas de supervivencia se calcularon por el método de Kaplan-Meyer aplicando el test de log-rank para la comparación de 2 o más grupos. La fecha inicial considerada fue la de la intervención quirúrgica, y la fecha final la de la muerte del paciente o la fecha de su último control. Los pacientes que no continuaron el seguimiento, se consideraron como perdidos sin presentar el evento final.

### Análisis multivariante

Para el análisis de los factores pronósticos que influían en la supervivencia de nuestra serie, se seleccionó la regresión múltiple de riesgos proporcionales de Cox como método estadístico más adecuado para determinar la asociación entre un conjunto de variables predictoras continuas o categóricas y una variable respuesta cuantitativa continua (supervivencia). Para el modelo de regresión se determinaron como estadísticos, el estadístico de la razón de verosimilitud y el Chi-cuadrado global. Para las variables dentro del modelo se calcularon estimaciones de los parámetros, errores típicos y estadísticos de Wald. Como variables explicativas o predictoras se consideraron las características clínicas y patológicas estudiadas, así como la ploidia del ADN. Se aplicaron métodos de selección por pasos de inclusión secuencial (forward selection), exclusión secuencial (backward elimination) y de paso a paso (step by step). El procedimiento de incorporación de variables fue dado por finalizado cuando la significación de "p" aportada por una variable a su entrada en la regresión excedió 0,05. La medida de efecto de cada variable se calculó a través del Hazard Ratio (HR) o riesgo relativo (RR).

## RESULTADOS

Actualmente 99 pacientes (44,19%) permanecen vivos, 75 (33,48%) fallecieron por causa tumoral, 15 (6,69%) fallecieron por causa no tumoral y 35 (15,64%) están perdidos para el seguimiento pero vivos en el momento de la pérdida.

De los 224 tumores, 134 (60,1%) no progresaron y 89 (39,9%) si lo hicieron. La mediana del tiempo libre de enfermedad entre los que progresaron fue de 9,55 con un rango 0-133 meses, de tal forma que el 70,9% de los que recidivaron lo hicieron durante los dos primeros años de seguimiento. De los que progresaron, 78 pacientes (89,5%), lo hicieron de forma locorregional, el 9,4% (9 pacientes) a distancia y dos pacientes (1,2%) en riñón contralateral. El 83,1% (74 pacientes) de los que han recidivado han fallecido, y sólo 15 (16,9%) permanecen vivos y con enfermedad.

Al analizar la asociación de las variables pronósticas con la progresión tumoral, en el análisis

univariante, los tumores aneuploides, los no organoconfinados y aquellos de alto grado presentaban una probabilidad significativamente mayor de recidiva que aquellos que no las presentaban. Sin embargo, de los pacientes fallecidos por progresión tumoral, el 23,3% fueron tumores diploides y el 20,3 % eran tumores organoconfinados. De los pacientes con tumores organoconfinados y diploides (77 pacientes), 10 recurrieron (13%) y 7 fallecieron por causa tumoral (9,1%).

El análisis actuarial de supervivencia cáncer-específico, mostró una probabilidad de supervivencia a 60 meses del 66,31% y a 120 meses del 62,6% para toda la serie. El análisis actuarial de supervivencia por estadios del TNM (Fig. 1) mostró las siguientes probabilidades de supervivencia reflejadas en la Tabla 2.

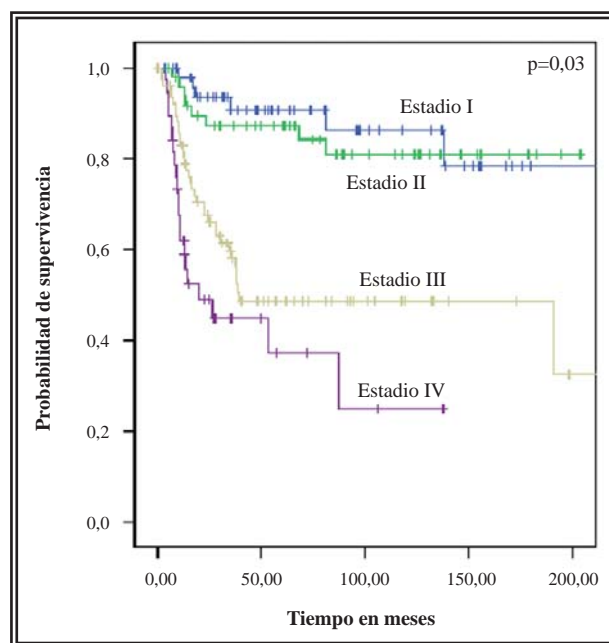


FIGURA 1. Supervivencia actuarial según clasificación TNM agrupado por estadios.

### Análisis de la asociación entre características clínico-tumorales y la progresión tumoral (recidiva).

Las variables estudiadas fueron la edad, el grado nuclear de Furhman, tipo histológico, clasificación TNM 2002, ploidia del ADN y tamaño tumoral.

#### Edad

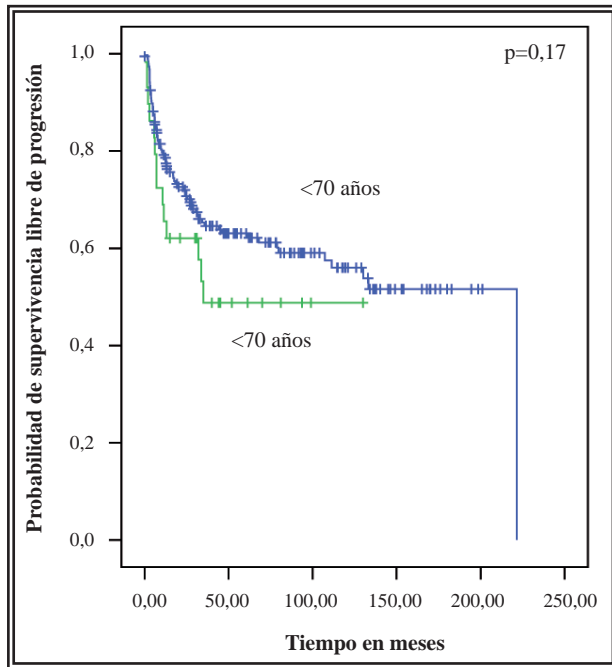
Al analizar la asociación entre la edad (categorizada en mayores y menores de 70 años) y el



**Tabla 2.** Probabilidad de supervivencia a 3, 5 y 10 años según clasificación TNM agrupado por estadios.

	3 años	5 años	10 años
Estadio I	90,85%	90,85%	86,31%
Estadio II	87,39%	87,39%	80,90%
Estadio III	58,05%	48,69%	48,69%
Estadio IV	44,84%	24,91%	24,91%

resto de variables pronósticas, en el grupo de mayores de 70 años existía un mayor porcentaje de aneuploidias (55,2% vs. 40,9%) sin alcanzar significación estadística. Tampoco se encontraron diferencias al asociar la edad al tamaño tumoral, estadio, tipo histológico, grado, y porcentaje de recidivas. El porcentaje de progresión en el grupo de mas edad fue porcentualmente mayor (46,6% vs 38,65%) pero sin alcanzar tampoco la significación estadística. El análisis de supervivencia libre de progresión tumoral no presentó diferencias entre ambos grupos de edad ( $p = 0,17$ ) (Fig. 2).



**FIGURA 2.** Supervivencia actuarial libre de progresión en función de los grupos de edad.

*Ploidia del ADN*

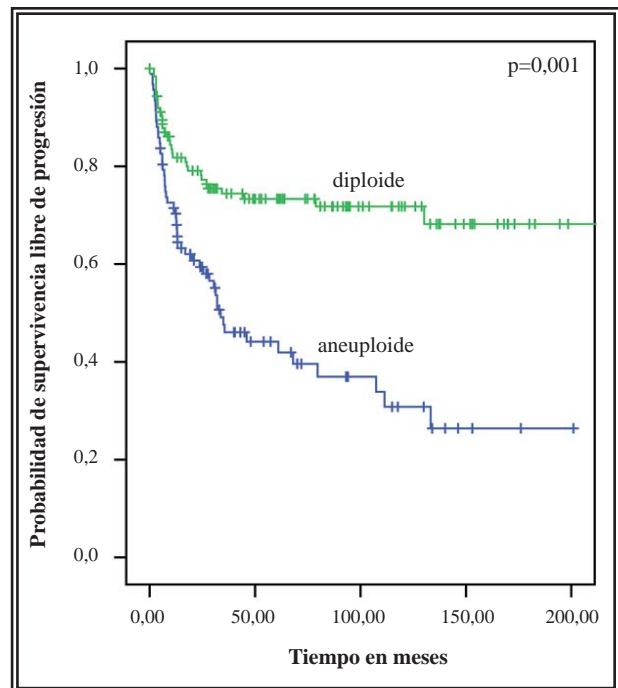
El estudio del ADN molecular mostró que la aneuploidia fue más frecuente en estadios avanzados al diagnóstico. Cuando analizamos la asociación de esta variable con el resto de variables

estudiadas, encontramos un porcentaje mayor de aneuploidias en tumores no organoconfinados respecto a los organoconfinados (56,8% vs. 26,7%) y también en aquellos de grado alto comparado con los de grado bajo (60,9% vs. 34,7%) con diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,001$ ). Ni el tamaño categorizado según cuartiles o dicotomizado según el valor de su mediana (7 cm), ni el tipo histológico ni la edad mostraron diferencias respecto a la detección de aneuploidias ( $p = 0,69$  y  $p = 0,5$  respectivamente). La tasa de progresión fue significativamente mayor en los pacientes con tumores aneuploides respecto a los diploides (56,8% y 27,13% respectivamente).

La supervivencia libre de progresión tumoral es significativamente peor en los tumores aneuploides ( $p < 0,001$ ) (Fig. 3).

*Tamaño tumoral.*

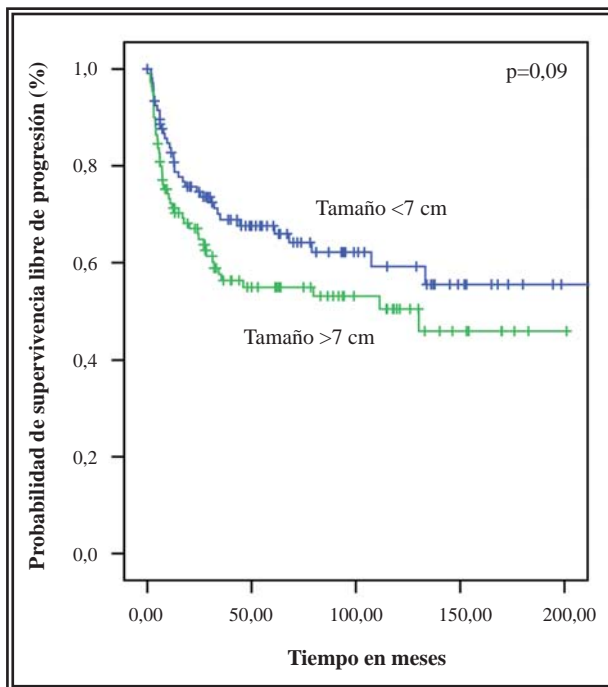
El tamaño tumoral categorizado en dos grupos (mayor y menor de 7cm) al compararlo con otras variables en estudio, no mostró asociación significativa con la edad ni con la ploidía. Sin embargo, si lo hizo con el TNM, al ser un punto de corte que define categorías dentro de la clasificación, y



**FIGURA 3.** Supervivencia actuarial libre de progresión en función de la ploidía del ADN.

también con el tipo histológico, de tal manera que el 80% de los tumores cromóforos eran mayores de 7,0 cm. También mostró asociación significativa con el grado tumoral, donde los tumores de mayor tamaño se asociaron a un mayor grado tumoral (41% de tumores de alto grado en mayores de 7 cm frente al 25% en menores de 7cm). Sin embargo, en nuestra serie el tamaño tumoral no se asoció a la progresión.

El análisis de supervivencia libre de progresión no mostró diferencias en función del tamaño aunque las diferencias estaban muy próximas a la significación estadística ( $p = 0,09$ ) (Fig. 4).



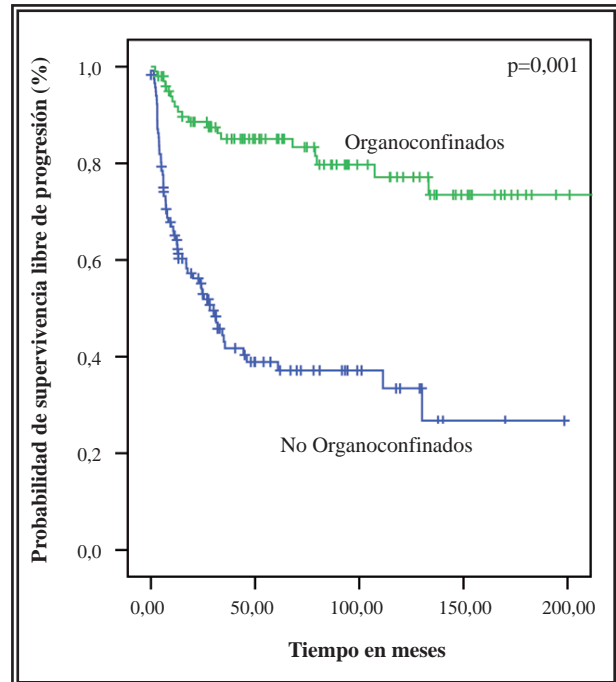
**FIGURA 4.** Supervivencia actuarial libre de progresión en función del tamaño tumoral.

#### Clasificación TNM 2002.

El TNM fue categorizado en tumores organoconfinados (estadios I-II) y no organoconfinados (III-IV). Cuando se analizó su asociación con el resto de variables pronósticas, no se encontró significación con la edad ni con el tipo histológico. Los tumores no organoconfinados se asociaron a tumores de mayor tamaño, a tumores de grado más indiferenciado (48% vs. 13,3% de los organoconfinados) y presentaron mayor porcentajes de aneuploidias (56,8% vs. 26,7% de los organoconfinados) todos ellos con significación

estadística ( $p < 0,001$ ). Aquellos tumores no organoconfinados progresaron en un porcentaje mayor frente a los organoconfinados (56,8% frente al 21%) de forma significativa.

La supervivencia libre de progresión mostró diferencias significativas entre las dos categorías de la clasificación TNM ( $p = 0,001$ ) (Fig. 5).



**FIGURA 5.** Supervivencia actuarial libre de progresión en función del TNM categorizado.

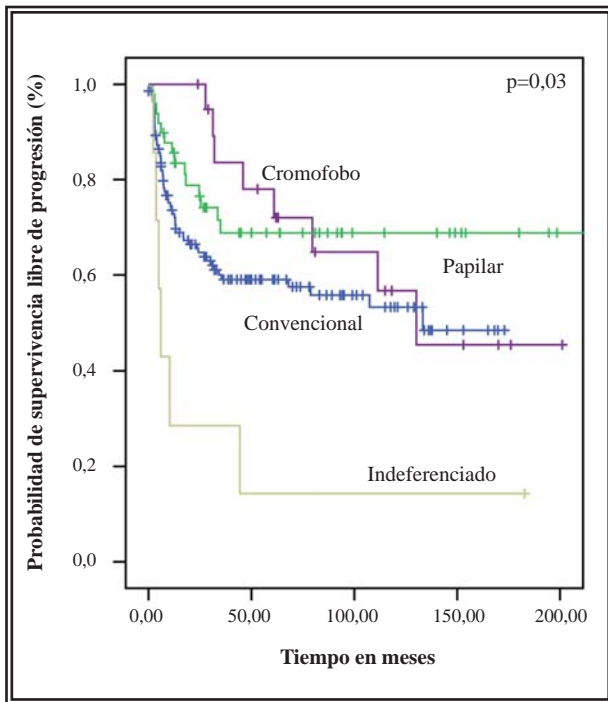
#### Tipo histológico

La distribución del tipo histológico no se asoció a la edad, ni a la ploidía, ni a la clasificación TNM. La frecuencia de los distintos tipos histológicos fue también uniforme en función del grado de diferenciación (tumores de alto y bajo grado), exceptuando el mayor porcentaje (85%) de tumores de alto grado entre los de estirpe indiferenciada, aunque sin significación estadística ( $p = 0,172$ ).

Cuando se evaluó la progresión tumoral, el tipo histológico que con mayor frecuencia progresó fue la estirpe histológica indiferenciada (85%), seguida del tumor convencional, cromóforo (ambos alrededor del 40%) y finalmente el papilar con un 30% de recidivas, aunque sin mostrar significación estadística.

El tiempo de supervivencia libre de progresión fue mayor para el carcinoma cromóforo, interme-

dio para el papilar, y menor para el convencional (Fig. 6). El peor tiempo de supervivencia es para los tumores indiferenciados, todos ellos con diferencias estadísticamente significativas en el test comparativo de log-rank ( $p=0,03$ ).

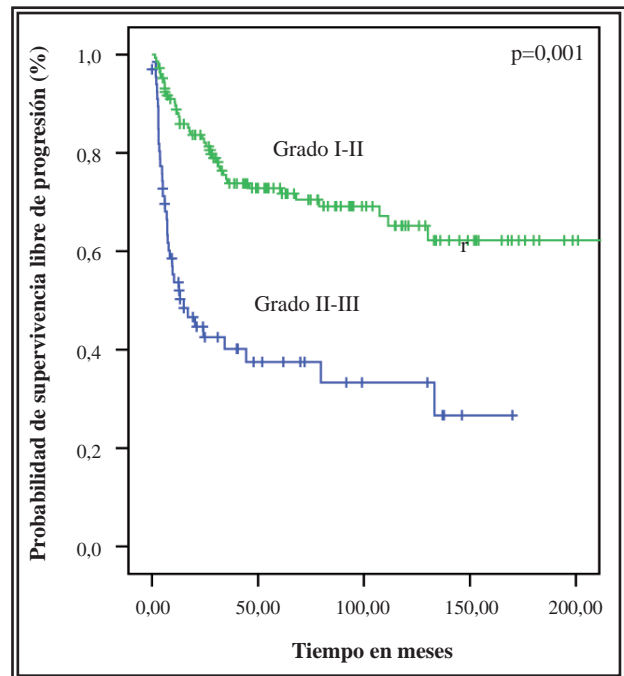


**FIGURA 6.** Supervivencia actuarial libre de progresión en función del tipo histológico.

#### Grado nuclear de Furhman

La variable grado nuclear ha sido categorizada en grado nuclear bajo (I, II) y grado nuclear alto (III, IV). Al analizar su relación con otras variables, el grado nuclear mostró asociación significativa con la ploidía (tumores aneuploides se asociaron a tumores de alto grado), con el tamaño (a mayor tamaño, mayor indiferenciación tumoral), y con la clasificación TNM (a mayor grado, mayor estadio). Sin embargo no existió asociación significativa con la edad ni el tipo histológico. La progresión tumoral ocurrió en el 60,9% de los tumores con grado nuclear alto, frente al 29,3% de los tumores de grado bajo, con diferencias significativas.

Los tumores de alto grado mostraron un peor tiempo de supervivencia libre de progresión que los de bajo grado cuando ambos parámetros fueron comparados ( $p = 0,001$ ) (Fig. 7).



**FIGURA 7.** Supervivencia actuarial libre de progresión en función del grado nuclear.

#### Análisis de los factores pronósticos independientes de supervivencia libre de progresión tumoral

Para el análisis de los factores pronósticos que influían en la supervivencia libre de progresión se seleccionó la regresión múltiple de riesgos proporcionales de Cox. El análisis se realizó utilizando como variables explicativas los factores pronósticos evaluados en el análisis univariante, seleccionando el modelo a tres de ellos como factores pronósticos independientes; la clasificación TNM, el grado nuclear de Furhman, y la ploidía del ADN (los resultados se muestran en la Tabla 3). El RR cuantifica el impacto de un factor sobre el logaritmo de la razón de riesgos, de tal forma que un incremento en la variable explicativa se asocia a un incremento en el riesgo de fallecer por progresión tumoral. En base a los valores obtenidos del RR, un paciente con un tumor no organoconfinado tiene una probabilidad 3,66 veces mayor que el organoconfinado de fallecer. Un paciente con un tumor aneuploide tiene 1,7 veces mayor probabilidad de fallecer que el mismo paciente con un tumor diploide y aquel paciente con un grado indiferenciado tiene una probabilidad de fallecer por progresión tumoral 2,56 veces superior a aquel paciente con un grado nuclear bien diferenciado.



**Tabla 3.** Resultados del análisis multivariante. Efecto de las variables seleccionadas sobre el riesgo de fallecer.

Variable	Coef	E.E.	Wald	p-valor	RR (riesgo relativo)	IC (95%)
TNM	1,30	0,31	17,10	0,0004E-1	3,66	1,98-6,77
Grado	0,95	0,24	14,48	0,0001	2,58	1,6-4,21
ADN	0,53	0,25	4,54	0,033	1,70	1,04-2,79

Variables explicativas: TNM (organoconfinado vs no organoconfinado), Grado nuclear (grado I-II vs Grado III-IV), ploidia del ADN (diploide vs aneuplo).

## DISCUSIÓN

El AR es una neoplasia de historia natural imprevisible, con tendencia a recurrir o progresar y causar el fallecimiento varios años tras el tratamiento inicial. El comportamiento biológico de los tumores es fiel reflejo de la biología molecular y de la genética, de tal forma que el conocimiento de dichos factores es esencial para entender la historia natural de la enfermedad.

Actualmente, con los factores pronósticos que tenemos a nuestro alcance, no es posible predecir con la suficiente exactitud el comportamiento biológico del AR. Por lo tanto, no se puede establecer una estrategia de seguimiento y terapéutica ajustada al riesgo individual de cada paciente. Si se tuviese una mayor exactitud pronóstica, se podrían seleccionar esquemas de seguimiento y técnicas quirúrgicas adecuadas al mayor o menor riesgo de progresión según el comportamiento biológico del tumor. Hasta este momento, los mejores factores pronósticos respecto al riesgo de progresión en el AR han sido el estadio al diagnóstico y el grado nuclear. Sin embargo aproximadamente el 25-30% de los tumores organoconfinados presentan metástasis indetectables en el momento del diagnóstico y del tratamiento quirúrgico, reflejo de las limitaciones en la predicción pronóstica de ambos factores. En este estudio, el análisis estuvo limitado a aquellos parámetros pronósticos que pueden ser obtenidos fácilmente del examen de la pieza de nefrectomía, incluyendo la determinación de la ploidia del ADN entre ellos.

El tamaño tumoral se ha relacionado con la aparición de metástasis y con la supervivencia a largo plazo. Así Bell<sup>11</sup>, ya evidenció una incidencia de metástasis en tumores mayores de 10 cm del 85%, y del 11% en menores de 3 cm. Guilliani et al.<sup>12</sup>, observaron tasas de supervivencia a 5

años del 0, 50 y 83,5% en tumores mayores de 10 cm, entre 5-10 cm y menores de 5 cm respectivamente. Este hecho se explica por la relación entre el tamaño y el estadio patológico, si bien algunos estudios han proporcionado al tamaño tumoral un valor pronóstico independiente para estadios avanzados<sup>13</sup>. Sin embargo, en tumores organoconfinados el tamaño tumoral también muestra su valor pronóstico, con supervivencias superiores al 90% en tumores menores de 4 cm con independencia si son tratados con cirugía radical o parcial<sup>14,15</sup>. Por todo ello, parece que el tamaño tumoral para cada uno de los estadios puede ser un factor pronóstico independiente<sup>16</sup>. En este estudio, el tamaño tumoral mostró asociación significativa en el análisis univariante con la clasificación TNM (el estadio patológico está basado en tamaño tumoral en pT1-2), con el grado nuclear (los tumores más grandes tienen mayor porcentaje de grados altos) y con el tipo histológico (el 89% de los tumores cromofobos eran mayores de 7cm). Sin embargo, el tamaño no mostró asociación con la progresión (progresaron el 43,75% de los tumores mayores de 7cm frente al 35,7% de los menores de 7cm, sin diferencias significativas). Tampoco demostró valor pronóstico independiente de supervivencia libre de progresión, ni en el análisis univariante ni en el multivariante.

La clasificación histológica recientemente modificada (Reunión de Consenso UICC/AJCC de 1997), combina los subtipos histológicos con anormalidades genéticas observadas. Los tipos histológicos principales son en la actualidad el carcinoma convencional (células claras, granulares o mixto), el carcinoma papilar, el carcinoma cromóforo y el carcinoma de los conductos colectores. Los datos de evolución y supervivencia relativos a la mayor parte de los subtipos histológicos comunes son todavía controvertidos, aun-

que distintos estudios sugieren que el subtipo cromóforo tiene un mejor pronóstico que el subtipo convencional, mientras que los papilares presentan un pronóstico intermedio<sup>17,18</sup>. Sin embargo, el subtipo convencional es el que ofrece paradójicamente mejor tasa de respuesta a la inmunoterapia, tal y como ha observado Childs<sup>19</sup>. El pronóstico del carcinoma cromóforo también es controvertido. La mayor parte de los estudios confirman que estos tumores suelen permanecer confinados a riñón a pesar de alcanzar un importante tamaño. La incidencia de metástasis es inferior al 10%<sup>20,21</sup>. Moch y cols<sup>22</sup> observaron mejor pronóstico en pacientes con carcinoma cromóforo que en aquellos con carcinoma convencional (78% vs. 50% de supervivencia a 5 años). Dónde si tiene la histología tumoral una significación pronóstica demostrada es en los pacientes con carcinoma de los conductos colectores y en el carcinoma con diferenciación sarcomatoide. El carcinoma renal de los conductos colectores supone menos del 1% de todos los tumores epiteliales renales. Es una variante agresiva que causa metástasis en fases iniciales de su evolución (35-40% al diagnóstico), limitando la supervivencia a largo plazo (33% a los 2 años)<sup>23</sup>. Por otra parte, la diferenciación sarcomatoide que se aprecia en el 2-5% de los casos conlleva un pronóstico realmente malo, y se ha descrito en todos los subtipos por igual<sup>24</sup>. Suele presentar metástasis en el 77% de los casos al diagnóstico y la supervivencia media no supera los 9 meses<sup>18</sup>. Por todo ello, parece que la histología tumoral aporta una significación pronóstica demostrada en pacientes con carcinoma de los conductos colectores y aquellos con diferenciación sarcomatoide. En esta serie, los resultados obtenidos están acorde con lo descrito. El subtipo histológico que mayor tasa de progresión tuvo fue el indiferenciado (85,7%), seguido del convencional (40,5%), cromóforo (40%) y papilar (30,6%). El análisis univariante de supervivencia seleccionó al cromóforo como el tumor con mejor probabilidad de supervivencia, seguido del papilar, convencional e indiferenciado. Sin embargo el tipo histológico no mostró valor pronóstico independiente de supervivencia libre de progresión en el análisis multivariante.

En esta serie, el grado nuclear mostró su valor pronóstico independiente de supervivencia libre de progresión tumoral, junto al TNM y la ploidia del ADN. Furhman y cols<sup>5</sup> demostraron que el grado nuclear fue mejor que otras variables para predecir el desarrollo de metástasis tras nefrectomía en el AR. Sin embargo el grado histológico del tumor renal requiere la consideración de un largo número de variables histológicas y citológicas<sup>25</sup> así como la necesidad de distinguir grados intermedios. Está sujeto a una interpretación subjetiva y una baja reproductibilidad interobservador. Todo ello conlleva a que su valor predictivo es limitado cuando más necesario es, en pacientes con tumores localizados, al no encontrar diferencias en la supervivencia tras estratificar los subgrupos de pacientes con cáncer localizado por el grado nuclear<sup>4,26</sup>. En muchos estudios y de forma similar a éste, el grado nuclear sólo alcanza valor pronóstico independiente de supervivencia cuando es agrupado en 2 ó 3 categorías<sup>27,28</sup>. Sólo algunos estudios, con grandes tamaños muestrales han demostrado su valor pronóstico considerando sus cuatro categorías<sup>29,30</sup>. Las probabilidades de supervivencia cáncer específica a 5 años según el grado nuclear, son extremadamente variables. Para el grado I, las tasas de supervivencia varían del 50 al 100%, del 30 al 94% para el grado II, del 10 al 80% para el grado III y del 9 al 66% en tumores de grado IV<sup>30-35</sup>. Esta amplia variabilidad en las tasas de supervivencia para cada una de las categorías puede ser explicada por diferentes motivos. Uno de ellos es la moderada correlación del grado nuclear entre diferentes observadores, correlación que parece mejorar cuando los grados se agrupan en categorías<sup>36</sup>. Dicha variabilidad puede ser explicada también por la heterogenicidad del tumor renal, el cual a menudo presenta áreas con diferentes grados en el mismo tumor. Aunque el grado nuclear debe corresponder al área más indiferenciada, no hay un consenso acerca de cual debe ser el mínimo tamaño del foco tumoral para ser considerado clínicamente significativo<sup>36-38</sup>. También la determinación del grado nuclear puede verse afectada por una fijación tisular subóptima o por la utilización de soluciones de fijación o protocolos diferentes en la preparación de la muestra<sup>39</sup>. La variabilidad en la supervivencia cáncer-específica

también puede explicarse por el tipo histológico. Aunque la UICC y la AJCC recomendaron el uso del grado nuclear de Furhman para los tipos histológicos del carcinoma convencional y papilar, la mayoría de los estudios lo utilizan en todos los tipos histológicos. Cheville y cols<sup>33</sup> demostraron diferencias en la supervivencia para tumores con grados similares con diferentes subtipos histológicos. Así, la probabilidad de supervivencia fue similar para los tumores con grado I-II independientemente del tipo histológico. Sin embargo, pacientes con carcinomas convencionales de grado III tuvieron peor probabilidad de supervivencia que aquellos con tumores papilares y cromofobos de grado III, mientras que el peor pronóstico correspondió al grado IV de cualquier tipo histológico. Sin embargo, a pesar de que el grado nuclear ha demostrado su valor pronóstico independiente de supervivencia en diferentes estudios, en esta serie el 29,3% de pacientes con bajo grado progresaron, a pesar de ser tumores a priori con buen pronóstico. Este hecho es el dato clínico que refleja las limitaciones expuestas anteriormente del grado nuclear como factor pronóstico independiente de supervivencia.

El estadio al diagnóstico (clasificación TNM) es junto al grado nuclear, los factores pronósticos clásicamente utilizados, en los que nos basamos fundamentalmente para establecer un pronóstico clínico. La clasificación con mejor valor predictivo es el TNM al subclasificar la afectación local tumoral y reflejar la diseminación linfática y hematógena. Muestra una fuerte asociación con la supervivencia en la mayoría de estudios, sobretodo tras las modificaciones sufridas en 1997 en el sistema TNM. Estas modificaciones conllevaron a un incremento de los tumores en estadio I (pT1N0M0), lo que permitió establecer comparaciones entre este subgrupo y el resto de las categorías<sup>22</sup>. No obstante, para mejorar su valor pronóstico, este sistema de clasificación está en revisión y modificación continua. Actualmente está pendiente de revisión y de posible modificación, afectando al tamaño que define al estadio T1, cuyo límite se establecerá entre 4-5 cm, así como la afectación de la glándula suprarrenal que probablemente se reclasificará como T4<sup>40-42</sup>. A pesar de que el estadio tumoral en nuestros resultados mostró un valor pronósti-

co independiente de supervivencia libre de progresión, con una probabilidad de fallecer para los pacientes con tumores no organoconfinados 3,66 veces mayor respecto a los tumores organoconfinados, el 20,3% de los pacientes que fallecieron por progresión tumoral eran pacientes con tumores organoconfinados, es decir tumores a priori de buen pronóstico. Este dato también refleja la insuficiente predicción por parte de la clasificación TNM para predecir con absoluta exactitud el pronóstico tumoral, de forma similar a lo que ocurría con el grado nuclear.

La inexactitud de los principales factores pronósticos (clasificación TNM y grado nuclear) demostrada en nuestra serie, nos llevó a incluir en el estudio información procedente del núcleo de la célula tumoral, en un intento de aumentar y refinar la capacidad predictiva de los factores pronósticos clásicos. Así analizamos el contenido de ADN de las células tumorales mediante citometría de flujo.

El estudio del contenido de ADN nuclear en el AR ha mostrado su utilidad como factor pronóstico independiente de progresión en distintos estudios. Así, diversos trabajos con distinta metodología, pero con el análisis de varias muestras tumorales para evitar la heterogenicidad tumoral que puede llevar al sesgo de los resultados, han mostrado resultados similares en cuanto al valor pronóstico independiente de la ploidía del ADN respecto a la supervivencia y progresión tumoral. Estos resultados han sido comprobados tanto a partir del estudio de muestras desparafinadas<sup>43-45</sup> como de muestras de tumor en fresco<sup>4,46,47</sup>. Además, Chautard et al.<sup>46</sup> demostraron que el porcentaje de células en fase de síntesis también presentaba valor pronóstico. Esta información junto a la de la ploidía del ADN lograba identificar a un grupo de pacientes con elevada probabilidad de progresión. Correspondía a pacientes portadores de tumores aneuploides y un elevado índice de células en fase de síntesis. Rey y cols<sup>48</sup> relacionaron la ploidía del ADN con el nivel de extensión del trombo en vena renal y vena cava, relacionando a la ploidía y al índice proliferativo con el proceso de carcinogénesis y la presencia de trombo tumoral. Ljungberg y cols<sup>49</sup> han demostrado tasas de supervivencia mejores en pacientes con tumores metastáticos diploides frente a

los metastáticos aneuploides. Sin embargo el valor pronóstico del contenido de ADN en el AR todavía es controvertido en la literatura, ya que varios estudios no consiguen demostrar su valor pronóstico de supervivencia y progresión<sup>50-53</sup>. Las causas por las que se pueden explicar estas diferencias son la gran heterogenicidad en términos de contenido de ADN, las diferencias metodológicas observadas en los diseños de los distintos estudios, tanto en la preparación de los tejidos a analizar, como en los diferentes métodos flujocitométricos, así como en las definiciones del contenido del ADN (ploidia y aneuploidia)<sup>54</sup>.

En nuestra serie, el porcentaje de aneuploidias detectadas (42,4%) se aproximó a otras series publicadas (21%-87,5%)<sup>55,56</sup>. La ploidia del ADN se asoció en el análisis univariante de forma significativa al estadio tumoral (mayor porcentaje de aneuploidias en tumores no organoconfinados) y al grado tumoral (mayor porcentaje de aneuploidias en tumores de alto grado). El análisis multivariante demostró el valor pronóstico independiente de la ploidia del ADN respecto a la supervivencia, junto al TNM y al grado tumoral, con un riesgo de fallecer el paciente con un tumor aneuploide próximo a dos veces<sup>1,7</sup> respecto a aquel con un tumor diploide. Sin embargo, a diferencia de otros estudios<sup>4,57</sup>, no se encontró un incremento estadísticamente significativo del porcentaje de aneuploidias con el incremento del tamaño tumoral estratificado (según los cuartiles de la variable tamaño) de forma similar a otras series publicadas<sup>58-60</sup>. Sin embargo el mayor porcentaje de aneuploidias lo detectamos en aquellos tumores mayores de 10 cm. En nuestro estudio si se observó un incremento progresivo en el porcentaje de detección de aneuploidias con estadios más avanzados, pero no con el incremento del tamaño. De todo ello se deduce que la aneuploidia tumoral no representa un evento temprano en la carcinogénesis de los tumores renales. Sin embargo, cuando aparece tiende a empeorar el pronóstico<sup>61</sup>. A pesar de su valor pronóstico independiente de supervivencia libre de progresión demostrado en nuestra serie, el 23,3% de los tumores diploides progresaron, reflejando también limitaciones en la predicción pronóstica cuando se evaluó de forma aislada.

Sin embargo la consideración en conjunto de los tres factores que demostraron valor pronóstico independiente de supervivencia libre de progresión tumoral en el análisis multivariante, mejoró la predicción pronóstica, de tal forma que la tasa de progresión para un tumor diploide, de bajo grado y organoconfinado fue del 8,5%. De ahí que la utilización de las tres variables en la práctica clínica nos ayudará a identificar pacientes con mayor o menor riesgo de progresión.

Así pues y en conclusión, las únicas variables que mostraron valor pronóstico independiente de supervivencia libre de progresión tumoral en nuestra serie fueron la clasificación TNM, el grado nuclear y el contenido de ADN determinado por citometría de flujo (ploidia del ADN). La consideración de la información aportada por estas tres variables aportará mayor exactitud a la predicción pronóstica del AR y ayudará a identificar pacientes con diferentes riesgos de progresión de enfermedad.

## REFERENCIAS

1. Jemal A, Siegel R, Ward E, Murray T, Xu J, Smigal C, et al. Cancer Statistics 2006. *Cancer J Clin.* 2006;56(2):106-130.
2. Greenlee R, Murray T, Bolden S, Wingo P. Cancer statistics. *Cancer J Clin.* 2000;50(1):7-33.
3. Hellsten S, Johnsen J, Berge T, Linell F. Clinically unrecognized renal cell carcinoma. Diagnostic and pathological aspects. *Eur Urol.* 1990;18 Suppl 2:2-3.
4. Di Silverio F, Casale P, Colella D, Andrea L, Seccareccia F, Sciarra A. Independent value of tumor size and DNA ploidy for the prediction of disease progression in patients with organ-confined renal cell carcinoma. *Cancer.* 2000;88(4):835-843.
5. Furrhman S, Lasky LC, Limas C. Prognostic significance of morphologic parameters in renal cell carcinoma. *Am J Surg Pathol.* 1982;6(7):655-663.
6. Crissman H, Steinkamp J. Rapid, simultaneous measurement of DNA, protein, and cell volume in single cells from large mammalian cell populations. *J Cell Biol.* 1973;59(3):766-771.
7. Vindelov LL, Christensen IJ, Nissen NI. Standardization of high-resolution flow cytometric DNA analysis by the simultaneous use of chicken and trout red blood cells as internal reference standard. *Cytometry.* 1983;3(5):328-331.
8. Hedley D, Shankey T, Wheelless L. DNA cytometry consensus conference. *Cytometry.* 1993;14(5):471-500.
9. Saphiro H. Practical flow cytometry. Extrinsic parameters. third ed. New York: Wiley-Liss; 1995.
10. Hedley DW, Friedlander ML, Taylor IW. Application of DNA flow cytometry to paraffin-embedded archival material for the study of aneuploidy and its clinical significance. *Cytometry.* 1985;6(4):327-333.
11. Bell E. A classification of renal tumours with observations on the frequency of the various types. *J Urol.* 1938;39:238-241.



12. Guilliani L, Giberti C, Martorana G, Rovida S. Radical extensive surgery for renal cell carcinoma: long term results and prognostic factors. *J Urol*. 1990;143(3):468-73; discussion 473-474.
13. Guinan P, Frank W, Saffrin R, Rubenstein M. Staging and survival of patients with renal cell carcinoma. *Semin Surg Oncol*. 1994;10(1):47-50.
14. Butler BP, Novick AC, Miller DP, Campbell SA, Licht MR. Management of small unilateral renal cell carcinomas: radical versus nephron-sparing surgery. *Urology*. 1995;45:34-40; discussion 40-41.
15. Lerner SE, Hawkins CA, Blute ML, Grabner A, Wollan PC, Eickholt JT, et al. Disease outcome in patients with low stage renal cell carcinoma treated with nephron sparing or radical surgery. *J Urol*. 1996;155(6):1868-1873.
16. Kontak JA, Campbell SC. Prognostic factors in renal cell carcinoma. *Urol Clin North Am*. 2003;30(3):467-480.
17. Kattan MW, Reuter V, Motzer RJ, Katz J, Russo P. A postoperative prognostic nomogram for renal cell carcinoma. *JUrol*. 2001;166(1):63-67.
18. Delahunt B. Histopathologic prognosis indicators for renal cell carcinoma. *Semin Diagn Pathol*. 1998;15(1):68-76.
19. Childs RW. Nonmyeloablative blood stem cell transplantation as adoptive allogeneic immunotherapy for metastatic renal cell carcinoma. *Crit Rev Immunol*. 2001;21(1-3):191-203.
20. Campbell S, Russo P, Hamed G. Chromophobe cell carcinoma of the kidney: a clinicopathologic study. *JUrol*. 1996;155:385A.
21. Crotty TB, Farrow GM, Lieber MM. Chromophobe cell renal carcinoma: clinicopathological features of 50 cases. *J Urol* 1995;154(3):964-967.
22. Moch H, Gasser T, Amin MB, Torhorst J, Sauter G, Mihatsch MJ. Prognostic utility of the recently recommended histologic classification and revised TNM staging system of renal cell carcinoma: a Swiss experience with 588 tumors. *Cancer*. 2000;89(3):604-614.
23. Carter MD, Tha S, McLoughlin MG, Owen DA. Collecting duct carcinoma of the kidney: a case report and review of the literature. *J Urol*. 1992;147(4):1096-1098.
24. Delahunt B, Nacey JN. Renal cell carcinoma: histological indicators of prognosis. *Pathology*. 1987;19(3):258-263.
25. Fujikama K, Sasaki M, Aoyama T, Itoh T. Role of volume weighted mean nuclear volume for predicting disease outcome in patients with renal cell carcinoma. *J urol*. 1997;157(4):1237-1241.
26. Bretheau D, Lechevallier E, de Fromont M, Sault MC, Rampal M, Coulange C. Prognostic value of nuclear grade of renal cell carcinoma. *Cancer*. 1995;76(12):2543-2549.
27. Tsui KH, Shvarts O, Smith RB, Figlin RA, deKernion JB, Belldegrun A. Prognostic indicators for renal cell carcinoma: a multivariate analysis of 643 patients using the revised 1997 TNM staging criteria. *J Urol*. 2000;163(4):1090-1095 quiz 1295.
28. Ficarra V, Righetti R, Martignoni G, D'Amico A, Piloni S, Rubilotta E, et al. Prognostic value of renal cell carcinoma nuclear grading: multivariate analysis of 333 cases. *Urol Int*. 2001;67(2):130-134.
29. Ficarra V, Prayer-Galetti T, Novella G, Bratti E, Maffei N, Dal Bianco M, et al. Incidental detection beyond pathological factors as prognostic predictor of renal cell carcinoma. *Eur Urol*. 2003;43(6):663-669.
30. Patard JJ, Leray E, Rioux-Leclercq N, Cindolo L, Ficarra V, Zisman A, et al. Prognostic value of histologic subtypes in renal cell carcinoma: a multicenter experience. *J Clin Oncol*. 2005;23(12):2763-2771.
31. Minervini A, Lilas L, Minervini R, Selli C. Prognostic value of nuclear grading in patients with intracapsular (pT1-pT2) renal cell carcinoma. Long-term analysis in 213 patients. *Cancer*. 2002;94:2590-2595.
32. Amin MB, Amin MB, Tamboli P, Javidan J, Stricker H, dePeralta Venturina M, et al. Prognostic impact of histologic subtyping of adult renal epithelial neoplasms: an experience of 405 cases. *Am J Surg Pathol*. 2002;26(3):281-291.
33. Chevillet JC, Lohse CM, Zincke H, Weaver AL, Blute ML. Comparisons of outcome and prognostic features among histologic subtypes of renal cell carcinoma. *Am J Surg Pathol*. 2003;27(5):612-624.
34. Erdogan F, Demirel A, Polat O. Prognostic significance of morphologic parameters in renal cell carcinoma. *Int J Clin Pract*. 2004;58(4):333-336.
35. Ficarra V, Martignoni G, Maffei N, Brunelli M, Novara G, Zanolla L, et al. Original and reviewed nuclear grading according to the Fuhrman system: a multivariate analysis of 388 patients with conventional renal cell carcinoma. *Cancer*. 2005;103(1):68-75.
36. Al-Aynati M, Chen V, Salama S, Shuhaibar H, Treleaven D, Vincic L. Interobserver and intraobserver variability using the Fuhrman grading system for renal cell carcinoma. *Arch Pathol Lab Med*. 2003;127(5):593-596.
37. Goldstein NS. Grading of renal cell carcinoma. *Urol Clin North Am*. 1999;26:637-642, vii.
38. Medeiros LJ, Jones EC, Aizawa S, Aldape HC, Chevillet JC, Goldstein NS, et al. Grading of renal cell carcinoma: Workgroup No. 2. Union Internationale Contre le Cancer and the American Joint Committee on Cancer (AJCC). *Cancer*. 1997;80(5):990-991.
39. Novara G, Martignoni G, Artibani W, Ficarra V. Grading systems in renal cell carcinoma. *J Urol*. 2007;177(2):430-436.
40. Zisman A, Pantuck AJ, Chao D, Dorey F, Said JW, Gitlitz BJ, et al. Reevaluation of the 1997 TNM classification for renal cell carcinoma: T1 and T2 cutoff point at 4.5 rather than 7 cm. better correlates with clinical outcome. *J Urol*. 2001;166(1):54-58.
41. Lau WK, Chevillet JC, Blute ML, Weaver AL, Zincke H. Prognostic features of pathologic stage T1 renal cell carcinoma after radical nephrectomy. *Urology*. 2002;59(4):532-537.
42. Algaba F, Arce Y, Trias I, Santaularia M, Rosales A. Aplicación de las clasificaciones del cáncer renal. *Actas urol Esp* 2006;30:372-378.
43. Ruiz-Cerda JL, Hernandez M, Gomis F, Vera CD, Kimler BF, O'Connor JE, et al. Value of deoxyribonucleic acid ploidy and nuclear morphometry for prediction of disease progression in renal cell carcinoma. *J Urol*. 1996;155(2):459-465.
44. Grignon DJ, Ayala AG, el-Naggar A, Wishnow KI, Ro JY, Swanson DA, et al. Renal cell carcinoma. A clinicopathologic and DNA flow cytometric analysis of 103 cases. *Cancer*. 1989;64(10):2133-2140.
45. Katusin D, Uzarevic B, Petroveci M, Mlinac-Lucijanic M, Marusic M, Marekovic Z. Clinical, histopathological and flow-cytometric properties of incidental renal cell carcinomas. *Urol Res*. 2000;28(1):52-6.
46. Chautard D, Dalifard I, Chassevent A, Guyetant S, Daver A, Vielle B, et al. Prognostic value of uPA, PAI-1, and DNA content in adult renal cell carcinoma. *Urology*. 2004;63(6):1055-1060.



47. Abou-Rebyeh H, Borgmann V, Nagel R, Al-Abadi H. DNA ploidy is a valuable predictor for prognosis of patients with resected renal cell carcinoma. *Cancer*. 2001;92(9):2280-2285.
48. Rey D, Pfister C, Gobet F, Martinez S, Staerman F, Grise P. Study of the prognostic value of DNA ploidy and proliferation index (Ki-67) in renal cell carcinoma with venous thrombus. *Prog Urol*. 2003;13(6):1300-1306.
49. Ljungberg B, Roos G, Stenling R. Deoxyribonucleic acid content in metastatic renal cell carcinoma: clinical implications. *Semin Surg Oncol*. 1998;4(3):165-168.
50. Shameem I, Shimabukuro T, Wada T, Kurisu H, Naito K. Expression of proliferation cell nuclear antigen and deoxyribonucleic acid value in renal cell carcinoma: correlation with different histopathological parameters and patient survival. *Eur Urol*. 1996;29(1):78-84.
51. Tannapfel A, Hahn HA, Katalinic A, Fietkau RJ, Kühn R, Wittekind CW. Prognostic value of ploidy and proliferation markers in renal cell carcinoma. *Cancer*. 1996;77(1):164-71.
52. Skolarikos A, Alivizatos G, Bamias A, Mitropoulos D, Ferakis N, Deliveliotis C, et al. Bcl-2 protein and DNA ploidy in renal cell carcinoma: Do they affect patient prognosis? *International Journal of Urology*. 2005;12(6):563-569.
53. Srigley JR, Hutter RV, Gelb AB, Henson DE, Kenney G, King BF, et al. Current prognostic factors-renal cell carcinoma: Workgroup No. 4. Union Internationale Contre le Cancer (UICC) and the American Joint Committee on Cancer (AJCC). *Cancer*. 1997;80(5):994-996.
54. Jochum W, Schroder S, al-Taha R, August C, Gross AJ, Berger J, et al. Prognostic significance of nuclear DNA content and proliferative activity in renal cell carcinomas. A clinicopathologic study of 58 patients using mitotic count, MIB-1 staining, and DNA cytophotometry. *Cancer* 1996; 77:514-21.
55. Papadopoulos I, Rudolph P, Weichert-Jacobsen K. Value of p53 expression, cellular proliferation, and DNA content as prognostic indicators in renal cell carcinoma. *Eur Urol*. 1997;32(1):110-117.
56. Pepe S, Ruggiero A, D'Acquisto M, De laurentiis M, De Placido S, Sandomenico C, et al. Nuclear DNA content-Derived parameters correlated with heterogeneous expression of P53 and bcl-2 proteins in clear cell renal carcinoma. *Cancer*. 2000;89(5):1065-1075.
57. Banner BF, Ernstoff MS, Bahnson RR, Titus-Ernstoff L, Taylor SR. Quantitative DNA analysis of small renal cortical neoplasms. *Hum Pathol*. 1991;22(3):247-253.
58. Shalev M, Gdor Y, Leventis A, Radnay J, Shapiro H, Bernheim J, et al. The prognostic value of DNA ploidy in small renal cell carcinoma. *Pathol Res Pract*. 2001;197(1):7-12.
59. Currin SM, Lee SE, Walther PJ. Flow cytometric assessment of deoxyribonucleic acid content in renal adenocarcinoma: does ploidy status enhance prognostic stratification over stage alone?. *J Urol*. 1990;143(3):458-463.
60. Lanigan D, McLean PA, Murphy DM, Donovan MG, Curran B, Leader M. Ploidy and prognosis in renal carcinoma. *Br J Urol*. 1993;71(1):21-24.
61. Minervini A, Di Cristofano C, Collecchi P, Salinitri G, Selli C, Bevilacqua G, et al. Intracapsular clear cell renal carcinoma: ploidy status improves the prognostic value of the 2002 TNM classification. *J Urol*. 2005; 174(4 Pt 1):1203-7; discussion 1207.

---

Correspondencia autor: Dr. D. A. Budia Alba  
Servicio de Urología. Hospital Univ. La Fe  
Avda. Campanar, 21 - 46009 Valencia. Tel.: 963 862 700  
E-mail autor: budia@pulso.com  
Información artículo: Cáncer renal  
Trabajo recibido: mayo 2007  
Trabajo aceptado: junio 2007